

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
14. Juli 2005 (14.07.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/064335 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 33/533**,
B01J 19/00, B01F 13/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/012172

(22) Internationales Anmeldedatum:
28. Oktober 2004 (28.10.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
103 50 484.2 20. Dezember 2003 (20.12.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **EHRFELD MIKROTECHNIK BTS GMBH**
[DE/DE]; Mikroforum Ring 1, 55234 Wendelsheim (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **AZZAWI, Alexander**
[DE/DE]; Georg-Büchner-Str. 16, 55129 Mainz (DE).

DERSCHUM, Stefan [DE/DE]; Wonsheimerstr. 2, 55234
Wendelsheim (DE).

(74) Anwalt: **SIEGERS, Britta**; c/o Bayer Business Services
GmbH, Law and Patents, Patents and Licensing, 51368
Leverkusen (DE).

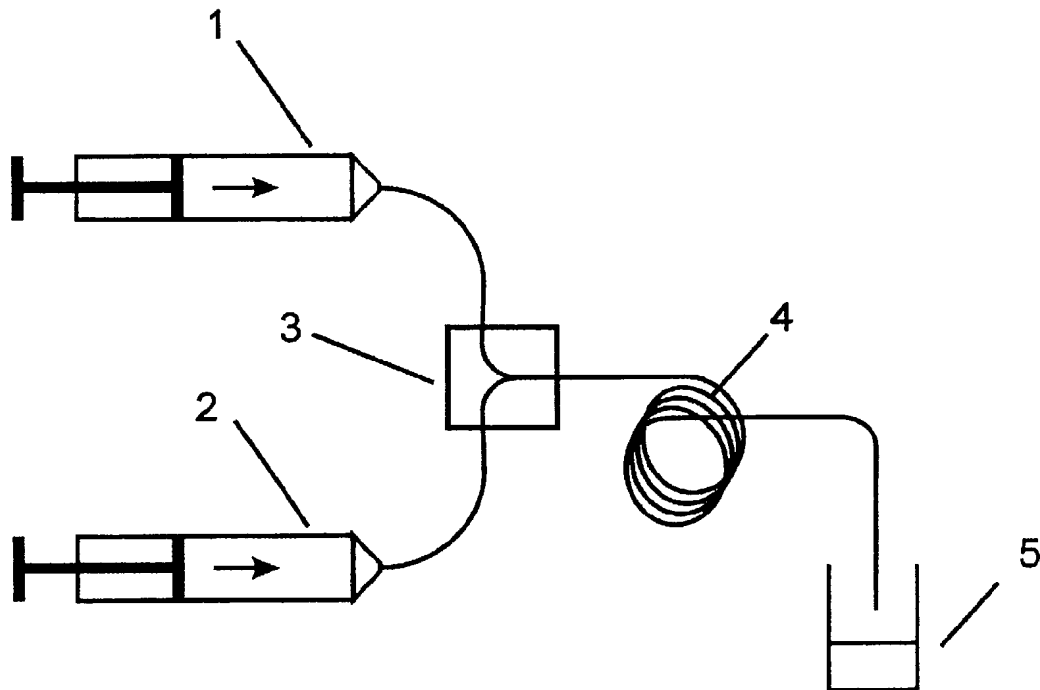
(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR MARKING BIOMOLECULES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR MARKIERUNG VON BIOMOLEKÜLEN



(57) Abstract: The invention relates to a method which is used to efficiently mark proteins with the help of a micromixer, in addition to a device which enables said inventive method to be carried out in an economical manner and with additional auxiliary agents.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/064335 A3



GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen

Recherchenberichts: 22. September 2005

(57) Zusammenfassung: Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur effizienten Markierung von Proteinen mit Hilfe eines Mikromischers sowie einer Vorrichtung mit dem das erfindungsgemäße Verfahren mit einem geringen Aufwand an weiteren Hilfsmitteln durchgeführt werden kann.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/012172

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N33/533 B01J19/00 B01F13/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B01J B01F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, COMPENDEX

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SPIKMANS VALERIE ET AL: "On-line on-chip post-column derivatisation reactions for pre-ionisation of analytes and cluster analysis in gradient micro-liquid chromatography/electrospray mass spectrometry." RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY : RCM. 2002, vol. 16, no. 14, 2002, pages 1377-1388, XP009049801 ISSN: 0951-4198 the whole document	1,2,4-7
X	WO 96/40398 A (BIOSEPPRA INC) 19 December 1996 (1996-12-19) the whole document	1-7
	----- -/--	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- * & * document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 June 2005

Date of mailing of the international search report

06/07/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lüdemann, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat Application No
PCT/EP2004/012172

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KLING KERSTIN ET AL: "Visualization of micro-and macromixing in liquid mixtures of reacting components" PROC. ASME/JSME JOINT FLUIDS ENG. CONF.; PROCEEDINGS OF THE ASME/JSME JOINT FLUIDS ENGINEERING CONFERENCE 2003, vol. 2 C, 2003, pages 2329-2335, XP009049802 the whole document	1-7
A	BRINKLEY M: "A BRIEF SURVEY OF METHODS FOR PREPARING PROTEIN CONJUGATES WITH DYES, HAPTENS, AND CROSS-LINKING REAGENTS" BIOCONJUGATE CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, US, vol. 3, no. 1, January 1992 (1992-01), pages 2-13, XP000261480 ISSN: 1043-1802 the whole document	1-7
A	HAUGLAND R P: "COUPLING OF MONOCLONAL ANTIBODIES WITH FLUOROPHORES" METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, HUMANA PRESS INC., CLIFTON, NJ, US, vol. 45, 1995, pages 205-221, XP009020645 the whole document	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2004/012172

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: **8**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box II.2

Claim: 8

Claim 8 relates to an inordinately large number of possible devices. The subject matter of claim 8 does not contain any technical apparatus features. The device according to claim 8 therefore appears to be so unclear or broadly worded (PCT Article 6) that it is not possible to carry out a meaningful search. In essence, any micromixer is covered by the scope of protection of claim 1.

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. After entry into the regional phase before the EPO, however, an additional search can be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, C-VI, 8.5) if the defects that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been remedied.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/012172

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9640398	A	19-12-1996	AU 6160896 A	30-12-1996
			CA 2223835 A1	19-12-1996
			EP 0839068 A1	06-05-1998
			JP 11510595 T	14-09-1999
			WO 9640398 A1	19-12-1996
<hr/>				

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 G01N33/533 B01J19/00 B01F13/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 G01N B01J B01F

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, COMPENDEX

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	SPIKMANS VALERIE ET AL: "On-line on-chip post-column derivatisation reactions for pre-ionisation of analytes and cluster analysis in gradient micro-liquid chromatography/electrospray mass spectrometry." RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY : RCM. 2002, Bd. 16, Nr. 14, 2002, Seiten 1377-1388, XP009049801 ISSN: 0951-4198 das ganze Dokument	1,2,4-7
X	WO 96/40398 A (BIOSEPPA INC) 19. Dezember 1996 (1996-12-19) das ganze Dokument ----- -/--	1-7

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. Juni 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

06/07/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Lüdemann, S

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	KLING KERSTIN ET AL: "Visualization of micro-and macromixing in liquid mixtures of reacting components" PROC. ASME/JSME JOINT FLUIDS ENG. CONF.; PROCEEDINGS OF THE ASME/JSME JOINT FLUIDS ENGINEERING CONFERENCE 2003, Bd. 2 C, 2003, Seiten 2329-2335, XP009049802 das ganze Dokument -----	1-7
A	BRINKLEY M: "A BRIEF SURVEY OF METHODS FOR PREPARING PROTEIN CONJUGATES WITH DYES, HAPTENS, AND CROSS-LINKING REAGENTS" BIOCONJUGATE CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, US, Bd. 3, Nr. 1, Januar 1992 (1992-01), Seiten 2-13, XP000261480 ISSN: 1043-1802 das ganze Dokument -----	1-7
A	HAUGLAND R P: "COUPLING OF MONOCLONAL ANTIBODIES WITH FLUOROPHORES" METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, HUMANA PRESS INC., CLIFTON, NJ, US, Bd. 45, 1995, Seiten 205-221, XP009020645 das ganze Dokument -----	1-7

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr. 8
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld II.2

Ansprüche Nr.: 8

Patentanspruch 8 bezieht sich auf eine unverhältnismässig grosse Zahl möglicher Vorrichtungen. Der Gegenstand von Anspruch 8 enthält keine technischen apparativen Merkmale. Daher erscheint die Vorrichtung nach Anspruch 8 im Sinne von Artikel 6 PCT in einer solchen Masse unklar oder zu weitläufig gefasst, als dass keine sinnvolle Recherche möglich ist. Im Wesentlichen fällt jeder Mikromischer unter den Schutzbereich des Anspruchs 1.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/012172

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9640398	A	19-12-1996	AU 6160896 A 30-12-1996
		CA 2223835 A1 19-12-1996	
		EP 0839068 A1 06-05-1998	
		JP 11510595 T 14-09-1999	
		WO 9640398 A1 19-12-1996	
<hr/>			